

Bermúdez, J.*
 Barriola, J.*
 Laborde, M.*
 Del Baglivi, L.*

C. I. Vet. Rubino M.A.P. Pando - Uruguay

R E S U M E N

Los autores muestrean 1.000 suinos en mataderos, durante el período 1974-1975, realizando prueba de Rosa Bengala, encontrándose dos reaccionantes positivos, de los cuales no se aisló **Brucella suis**.

La totalidad de los sueros de los animales muestreados fue sometida a la prueba de aglutinación en placa, efectuándose con aquellos que presentaban título, pruebas de aglutinación en tubo, mercaptoetanol y fijación de complemento.

Se discuten los resultados de dichas pruebas, se propone un criterio diagnóstico y se dan recomendaciones con respecto a la importación de suinos.

INTRODUCCION

La Brucelosis suina es una enfermedad infectocontagiosa, causada por **Brucella suis**, manifestándose por esterilidad y aborto en la hembra, mortalidad en lechones, orquitis en los machos y que ocasiona problemas económicos y de Salud Pública (7, 9, 16, 17).

Si bien hay poca información sobre esta enfermedad a nivel de América Latina, se sabe que está ampliamente difundida y que existe en nuestros dos países limítrofes (Argentina y Brasil), (4, 15).

En el Uruguay, la **Brucella suis** fue aislada por primera vez por E. Hormaeche y

col., 1933 (13) y posteriormente por M. C. Rubino y col., 1943 (21). En ambos casos en cerdos provenientes de la Argentina, procediéndose entonces al sacrificio de las pjaras. A nivel nacional se encuentran publicaciones de estudios serológicos que indican la presencia de suinos reaccionantes a la prueba de aglutinación, pero no dan idea sobre la existencia de la enfermedad (3, 21).

El objetivo del presente trabajo fue el de obtener información sobre la presencia de **Brucella suis**, a efectos de poder determinar la política futura y, en caso de no constatar la enfermedad, efectuar recomendaciones sobre las condiciones que deberían reunir los suinos importados.

* Técnicos del Programa de Bacteriología del C. I. VET. "Miguel C. Rubino". Casilla de Correo 177 Montevideo-Uruguay.

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo fue realizado en el período octubre 1974 — octubre 1975, en cinco mataderos de los departamentos de Montevideo, Canelones y Maldonado, muestreándose 1.000 suinos provenientes de las zonas este, sur y litoral del país, de acuerdo a la siguiente metodología:

A. En los mataderos:

1. Se identificó cada animal muestreado con un número de orden en la carcasa, cabeza y vísceras para que, en caso de encontrar un reaccionante positivo, se pudiera identificar a efectos de tomar muestras de órganos que posibiliten el aislamiento de **Brucella suis**.

2. Se tomaron, en el momento de la sangría muestras de sangre en frascos universales, identificados con el mismo número de orden antedicho e inmediatamente se trasvasaron 8 ml. a tubos 12 x 100 mm., en los cuales mediante centrifugación se obtuvieron los sueros.

3. Con el objeto de detectar reaccionantes, se efectuó con dichos sueros, la prueba de Rosa Bengala (8) empleándose antígeno preparado por el C.I.V. "Miguel C. Rubino" (22), placas de cármica (*) y agitador de fabricación nacional, regulado a 14 oscilaciones por minuto.

4. Cuando aparecieron animales reaccionantes, se tomaron de los mismos, muestras por separado de los siguientes grupos de órganos: ganglios subparotídeos, ganglios retrofaríngeos, ganglios inguinales o retromamarios, ganglios hepáticos, genitales (útero o testículo y vesículas seminales) (5, 11), riñón y grasa perirrenal si presentaban lesiones al examen post-mortem (14). Todos colectados en recipientes estériles y mantenidos refrigerados hasta su arribo al Laboratorio.

B. En el Laboratorio:

1. Cada uno de los grupos de órganos se mantuvo a -72°C y se procesaron por separado dentro de las 72 horas de extraídos.

Luego de eliminar la grasa periférica, previa inmersión en alcohol y flameado, se hizo un triturado con agua peptonada a 4°C (10 partes a 1), se centrifugó a 6.000 g. por 10 minutos y el sedimento se resuspendió en agua peptonada en cantidad suficiente para siembra e inoculación. Se sembró 0,1 ml. de cada material en cuatro cajas de Agar Dextrosa, suero con inhibidores (18), de las cuales dos se incuban en 10% de CO_2 y dos en aerobiosis, durante siete días a 37°C .

Se inocularon cobayos machos de 300 gr. con 1 ml., intramuscular, a razón de dos cobayos por cada material, permaneciendo en observación por 40 días y tomando muestras de sangre a los 15 y 30 días para efectuar pruebas serológicas (aglutinación en placa y en tubo). Vencido el plazo e independientemente del resultado serológico obtenido, los cobayos fueron sacrificados, efectuándose cultivos a partir de bazo, ganglios cervicales y ganglios precurales (18).

En caso de aislamiento se hubiera procedido según lo recomendado por el Comité de Expertos en Brucelosis, O.M.S., F.A.O. (1), para la identificación de las cepas y se hubieran realizado estudios posteriores en el lugar de origen del suino.

2. Los sueros de los animales muestreados se mantuvieron congelados a -72°C hasta la realización de las pruebas, procediéndose de la siguiente manera: primero se realizó aglutinación en placa (6), eliminándose los que dieron resultado negativo y efectuando con los que daban título, las pruebas de aglutinación en tubo (6), mercaptoetanol (8) y fijación de complemento (10) (*).

* Cármica M.R. Laminado sintético de melamina formaldehído.

* Se siguieron las recomendaciones del Centro Panamericano de Zoonosis para Brucelosis.

RESULTADOS

Los resultados se expresan en los Cuadros 1, 2 y 3.

Los sueros que reaccionaron a la prueba en placa fueron sometidos a la prueba de aglutinación en tubo donde mostraron una caída promedio de 1/2 punto y un 24% de sueros con títulos de 1 25 U.I. a 50 U.I., a la prueba en placa, se hacían negativos a la prueba en tubo.

La totalidad de sueros con título en placa fue negativa a las pruebas de mercaptoetanol y fijación de complemento. No se observaron lesiones en riñón ni en grasa perirrenal.

CUADRO 1
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ROSA BENGALA

NEGATIVOS	998
POSITIVOS	2
Total	1000

CUADRO 2
RESULTADOS DE DOS SUINOS POSITIVOS A LA PRUEBA DE ROSA BENGALA

SUINO N°	AISLAMIENTO DE BRUCELLA SUIS			SEROLOGIA			
	Inoculación al cobayo			Agl. placa	Agl. tubo	M.E.	F.C.
	Serología	Cultivo	Cultivo				
77	—	—	—	1 100 U.I.	1 50 U.I.	—	—
236	—	—	—	100 U.I.	50 U.I.	—	—

I = Aglutinación incompleta U.I. = Unidades internacionales

CUADRO 3
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE AGLUTINACION EN PLACA:

CATEGORIA	NUMERO	PORCENTAJE
Sin título	782	78.20
I 25 U.I.	98	9.80
25 U.I.	40	4
I 50 U.I.	40	4
50 U. I.	36	3.60
1100 U.I.	3	0.30
100 U.I.	1	0.10
1200 U.I.	0	—
200 U.I.	0	—

I = Aglutinación incompleta U.I. = Unidades internacionales

DISCUSION

Los estudios efectuados en el Uruguay (3, 21) se limitan al uso de la aglutinación en placa, prueba que si bien es la que detecta mayor número de reactores (2, 20), aplicada en nuestro medio no nos da

idea sobre la presencia de la enfermedad. La prueba de aglutinación en placa es de difícil interpretación ya que se presentan casos de falsos negativos y a que títulos bajos pueden encontrarse en animales con o sin infección (12,16), por lo que se han adoptado criterios de interpretación colec-

tiva. Los mencionados títulos bajos en animales sanos pueden deberse a heteroglobulinas (16).

La metodología del presente trabajo es eficiente y fácil de realizar a nivel de matadero, a fin de detectar reactores sobre los cuales se intenta luego el aislamiento ya que, según Nicoletti (19), la prueba del Rosa Bengala tiene correlación positiva con el aislamiento, no obstante se presenten casos de falsos positivos y falsos negativos en infecciones recientes (12).

En nuestro caso, los suinos positivos al Rosa Bengala deben considerarse como falsos reactores ya que, a pesar de haber usado **técnicas sensibles**, no fue posible aislar **Brucella suis** y que los sueros de dichos animales fueron negativos a las pruebas de fijación de complemento y mercaptoetanol. Si bien se señala que la prueba de fijación de complemento puede dar falsos negativos en infecciones recientes (2) es la más eficaz para el diagnóstico de la enfermedad (2, 12); ningún suero presentó actividad anticomplementaria, hecho atribuible a las buenas condiciones de extracción y conservación.

La prueba de mercaptoetanol guarda correlación con la fijación de complemento en sueros que aglutinan a más de 25 U.I. (20).

La prueba en tubo es considerada la mejor para diagnosticar infecciones recientes (2) y sueros con títulos bajos en placa se hacen negativos a ésta (20), hecho constatado por nosotros en el presente estudio.

CONCLUSIONES

Debido a que los brotes registrados en el país tuvieron su origen en suinos importados, a que dichas pjaras fueron sacrificadas, a que no hay evidencia clínica de la enfermedad, a que los brotes de aborto estudiados por nosotros en el Departamento de Bacteriología fueron siempre negativos a **Brucella**, a que no hay evidencia serológica de la infección así como diagnóstico de **Brucella suis** en el hombre concluimos, al no haber logrado aislamiento, que la enfermedad hay que considerarla **exótica**. Los resultados obtenidos nos permiten realizar las siguientes recomendaciones:

1. Que sólo se realice importación de suinos de países o áreas libres de la enfermedad.
2. Que todo suino que se introduzca en el país sea negativo a la prueba de Rosa Bengala y que no presente título en las pruebas de aglutinación en placa y fijación de complemento.
3. Que en suinos del país los títulos de hasta 100 U.I. incompletas a la prueba en placa no deben considerarse como representativos de infección.
4. Que para el diagnóstico de rutina en el país deben usarse las técnicas de Rosa Bengala y fijación de complemento y que, en caso de aparecer reactores, se sacrifique al animal para intentar el aislamiento.

SUMMARY

The authors sampled 1.000 pigs from slaughterhouses during the period 1974-1975, carrying out Rose Bengal Test.

Two positive reactors to the Rose Bengal Test were found but **Brucella suis** was not isolated.

The Serum Agglutination Plate Test was done on all sera of Swine sampled and all those showing titers were then subjected to the Serum Agglutination Tube Test, Mercaptoethanol Test and Complement Fixation test.

The authors discuss the serological results, propose diagnostic criteria and made recommendations on the importation of swine.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración de los Ayudantes Técnicos Sr. Eduardo Durán y Sra. Daisy Bucheli de Vega y a las autoridades de los mataderos Pando S.A., Cristiani Hnos., Ottonello Hnos. y "Cerroamar" (Strata S.A.), quienes hicieron posible la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- 1) ALTON, G. G. y JONES, I. M. — Las técnicas de laboratorio en la Brucelosis. O.M.S. Ginebra, 1965, 95 pp.
- 2) ARGOTE, E. — Diagnóstico de la Brucelosis porcina mediante la utilización simultánea de las pruebas de aglutinación lenta y fijación de complemento. *Rev. Cub. C. Vet.* 1: 221-225, 1970.
- 3) CAFFARENA, R.; AGORIO, M. y BARRIOLA, J. — Comprobaciones serológicas de Brucelosis y Leptospirosis en suinos de la República Oriental del Uruguay. *Gaceta Vet. (R.A.)* 29: 289-298, 1967.
- 4) CEDRO, V. C. F.; CISALE, H. O. y CACHIONE, R. A. — Algunos aspectos de la Brucelosis porcina, Argentina. Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación, 1958, 45 pp.
- 5) CEDRO, V. C. F.; DE BENEDETTI, L. M. E. y GARCIA CARRILLO, C. — Brucelosis experimental en porcinos I. Determinación de dosis infectante. *Rev. de Investigaciones Agropecuarias, I.N.T.A. (R.A.) Serie 4 Patología Animal*: 8: 91-98, 1971.
- 6) CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. — Técnicas de seroaglutinación de la Brucelosis. *Nota técnica* 2, 29 pp., 1963.
- 7) CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. — Programa de Brucelosis. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* 70, 189, 1971.
- 8) CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. — Pruebas complementarias para el diagnóstico serológico de la Brucelosis. *Mimeografiado*, 16 pp., 1970.
- 9) CRAWFORD, A. B. y MANTHEI, C. A. — Brucellosis of swine, U.S. Department of Agriculture Circular 781, 12 pp., 1948.
- 10) COMMUNICABLE DISEASE CENTER. — Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro Test. *Public Health Monograph*, N° 74, S. F.
- 11) DEYOE, B. L. y MANTHEI, C. A. — Sites of localization of *Brucella suis* in swine. *Proc. 71 st. Ann. Meet. U.S. Livestock Sanitary Ass.*: 102-108, 1967.
- 12) GARCIA CARRILLO, C.; CEDRO, V. C. F. y DE BENEDETTI, L. M. E. — Brucellosis experimental en porcinos II. Evaluación de técnicas serológicas en cerdos con infección reciente de *Brucella suis*. *Revista de Investigaciones Agropecuarias, I.N.T.A. (R.A.) Serie 4 Patología Animal*: 8: 99-107, 1971.
- 13) HORMAECHE, E. y LOCKHART, G. — Algunos estudios sobre la Brucelosis en el Uruguay. *Policía Sanitaria de los Animales (R.O.U.)*: 19: 466-481, 1935.
- 14) LANGENEGGER, J. y COL. — Abscesos na gordura perirrenal causados por *Brucella suis* en suinos infestados por *Stephanurus dentatus*. *Pesq. Agropec. Bras. Sér. Vet.*: 7: 15-18, 1972.
- 15) LOMBARDO, R. — Panorama general de la Brucelosis en las Américas. V Congreso Latinoamericano de Microbiología. Uruguay, 1971, 369-373.
- 16) MANTHEI, C. A. y DEYOE, B. L. — Brucellosis in Diseases of Swine. 3rd. ed. Ames, U.S.A. The Iowa University Press. 433-456, 1970.
- 17) MANTHEI, C. A. — Research on Swine Brucellosis by the Bureau of Animal Industry (1941-1947), *Amer. J. Vet. Res.*: 9: 40-45, 1948.
- 18) MORGAN, B. W.J. y COL. — Standard Laboratory techniques for the diagnosis of Brucellosis. *Ministry of Agricultural Fisheries and Food*, 64 pp., 1971.
- 19) NICOLETTI, P. — Utilization of the card test in Brucellosis eradication. *J.A.V.M.A.*: 151: 1778-1783, 1967.
- 20) PEREZ FRANCO, J. y GARCIA CARRILLO, C. — Encuesta serológica de Brucelosis en cerdos sacrificados en algunos frigoríficos de la ciudad de Buenos Aires. *Rev. de Med. Vet. (R.A.)* 51: 3-8, 1970.
- 21) RUBINO, M. C. y COL. — Epizootiología de la Brucelosis en el Uruguay. *Compilación de Trabajos del Dr. Miguel C. Rubino M. G. A., Montevideo, Impresora Uruguaya S. A.*, 533-546, 1946.
- 22) U.S. NATIONAL DISEASE LABORATORY. — Production of Buffered *Brucella* Antigen (B.B.A.) for the Brewer Card Test in Diagnostic Reagent Manual. *Mimeografiado*, 65, c., S.F.